

中文



STATE INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE OF THE P.R.C.

[HOME](#) [ABOUT SIPO](#) [NEWS](#) [LAW & POLICY](#) [SPECIAL TOPIC](#) [CHINA IP NEWS](#)**Title: Steroid saponins compound for curing cancer and its preparation method**

Application Number	98114030	Application Date	1998.06.01
Publication Number	1237583	Publication Date	1999.12.08

Priority Information

International Classification	A61K9/00;A61K31/58;C07J71/00;C07J75/00
------------------------------	--

Applicant(s) Name	Shengyang Univ. of Pharmaceutical Sciences
-------------------	--

Address

Inventor(s) Name	Yao Xinsheng;Hu Ke;Dong Aljun
------------------	-------------------------------

Patent Agency Code	21205	Patent Agent	xie bin
--------------------	-------	--------------	---------

Abstract

The present invention relates to a steroid saponin compound for curing various cancers. It not only possesses good therapeutic effect, but also has no toxic side effect. It is made up by using plants or Chinese medicinal materials through the processes of ethyl alcohol extraction, n-butyl alcohol extraction and the separation measures of polymeric adsorbent column chromatography, vacuum liquid-phase column chromatography, silica gel column chromatography, Sephadex column chromatography, medium-low pressure column chromatography and preparation type HPLC, or can be obtained by adopting synthesizing and semi-synthesizing process. Said invention can be made into various dosage forms.

[Machine Translation](#)[Close](#)

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl.⁶

C07J 71/00

C07J 75/00 A61K 31/58

A61K 9/00

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 98114030.0

[43]公开日 1999 年 12 月 8 日

[11]公开号 CN 1237583A

[22]申请日 98.6.1 [21]申请号 98114030.0

[71]申请人 沈阳药科大学

地址 110015 辽宁省沈阳市沈河区文化路 103 号

[72]发明人 姚新生 胡 柯 董爱军

[74]专利代理机构 辽宁工会专利事务所

代理人 谢 滨

权利要求书 7 页 说明书 19 页 附图页数 1 页

[54]发明名称 一种治疗癌症的甾体皂甙类化合物及其制备方法

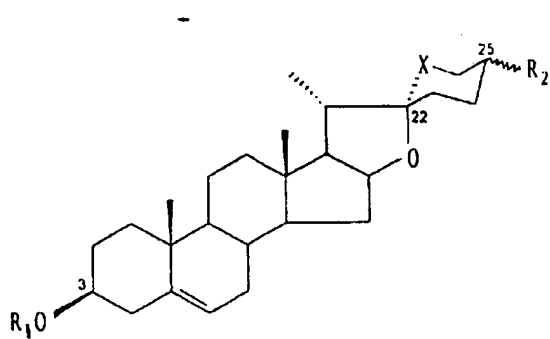
[57]摘要

本发明是一种治疗癌症的甾体皂甙类化合物,它对癌症不但具有较好的疗效,而且还无毒副作用。它是由植物或中药材经乙醇提取再用正丁醇萃取,再利用包括吸附树脂柱层析、真空液相柱层析、硅胶柱层析、Sephadex 柱层析、中低压柱层析以及制备型高压液相(HPLC)柱层析等分离手段,从天然植物或者中药中获得的化合物,或者通过合成以及半合成手段获得的。它可制成各种剂型,根据病人的状况,治疗各期的癌症患者。

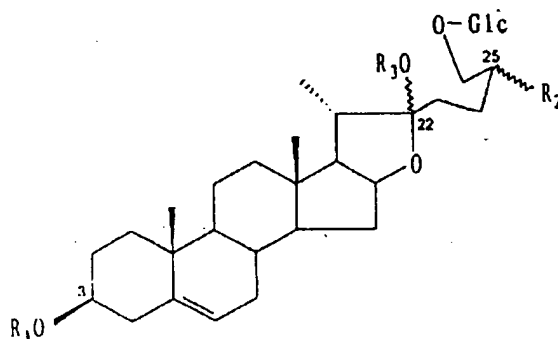
ISSN 1008-4274

权利要求书

1. 一种治疗癌症的甾体皂甙类化合物及其制备方法，它是以植物和中药材为原料提取的化合物，其特征在于：将植物或中药材经乙醇提取，再用正丁醇萃取，再利用包括吸附树脂柱层析、真空液相柱层析、硅胶柱层析、Sephadex柱层析、中低压柱层析以及制备型高压液相 (HPLC) 柱层析等分离手段，从天然植物或者中药中获得的具有通式(I)、(II) 甾体皂甙类化合物，或者通过合成以及半合成手段获得具有通式(I)、(II) 的甾体皂甙类化合物，通式 (I)、(II) 化合物的结构如下：



通式 (I)



通式 (II)

通式(I)中:

R_1 = 由单糖、双糖、三糖、四糖、五糖、六糖所组成的各种形式的直链糖链或支链糖链, 其糖链组成糖的类型包括 β -D-葡萄糖 (β -D-glucose)、 α -D-葡萄糖 (α -D-glucose)、 α -L-鼠李糖 (α -L-rhamnose)、 β -D-半乳糖 (β -D-glucose)、 α -D-半乳糖 (α -D-glucose)、 β -D-甘露糖 (β -D-mannose)、 α -D-甘露糖 (α -D-mannose)、 α -D-阿拉伯糖 (α -D-arabinose)、 β -D-阿拉伯糖 (β -D-arabinose)、 α -D-木糖 (α -D-xylose)、 β -D-木糖 (β -D-xylose)、 α -D-核糖 (α -D-ribose)、 β -D-核糖 (β -D-ribose)、 α -D-来苏糖 (α -D-lyxose)、 β -D-来苏糖 (β -D-lyxose)、 α -L-夫糖 (α -L-fucose)。

通式(I)中:

R_1 = 由单糖、双糖、三糖、四糖、五糖、六糖所组成的各种形式的直链糖链或支链糖链, 其糖链组成糖的类型包括 β -D-葡萄糖 (β -D-glucose)、 α -D-葡萄糖 (α -D-glucose)、 α -L-鼠李糖 (α -L-rhamnose)、 β -D-半乳糖 (β -D-galactose)、 α -D-半乳糖 (α -D-galactose)、 β -D-甘露糖 (β -D-mannose)、 α -D-甘露糖 (α -D-mannose)、 α -D-阿拉伯糖 (α -D-arabinose)、 β -D-阿拉伯糖 (β -D-arabinose)、 α -D-木糖 (α -D-xylose)、 β -D-木糖 (β -D-xylose)、 α -D-核糖 (α -D-ribose)、 β -D-核糖 (β -D-ribose)、 α -D-来苏糖 (α -D-lyxose)、 β -D-

来苏糖 (β -D-lyxose)、 α -L-夫糖 (α -L-fucose)。

2、根据权利要求1所述的一种治疗癌症的甾体皂甙类化合物及其制备方法，其特征在于：



C_{26} 为R构型或者S构型

3、根据权利要求1所述的一种治疗癌症的甾体皂甙类化合物及其制备方法，其特征在于：

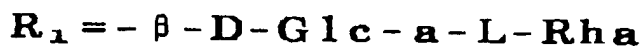


C_{22} 为R构型或者S构型

C_{26} 为R构型或者S构型

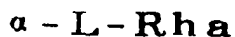
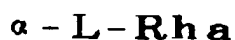
4、根据权利要求1所述的一种治疗癌症的甾体皂甙类化合物及其制备方法，其特征在于：

所用活性物质为通式(I)中，



$R_2 = CH_3, X = N, C_{26}$ 为R构型的化合物 - β_2 -solamargine

所用活性物质为通式(I)中，



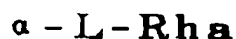
$R_2 = CH_3, X = N, C_{26}$ 为R构型的化合物 - solamargine

所用活性物质为通式 (I) 中,



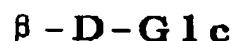
$R_2 = CH_3$, $X=O$, C_{28} 为 R 构型的化合物 - prosapogenin A of dioscin

所用活性物质为通式 (I) 中,



$R_2 = CH_3$, $X=O$, C_{28} 为 R 构型的化合物 - dioscin.

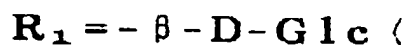
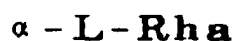
所用活性物质为通式 (I) 中,



$R_2 = CH_3$, $X=O$, C_{28} 为 R 构型的化合物 - gracillin.

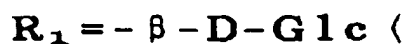
5、根据权利要求 1 所述的一种治疗癌症的甾体皂甙类化合物及其制备方法, 其特征在于:

所用活性物质为通式 (II) 中,



$R_2 = CH_3$, $R_3 = H$, C_{22} 为 R 构型, C_{28} 为 S 构型的化合物 - protoneodioscin

所用活性物质为通式 (I) 中,



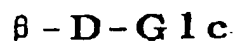
$R_2 = CH_3$, $R_3 = H$, C_{22} 和 C_{25} 均为R构型的化合物 - p
rotoneodioscin

所用活性物质为通式(I)中,



$R_2 = CH_3$, $R_3 = H$, C_{22} 为R构型, C_{25} 为S构型的化合物 - protoneogracillin

所用活性物质为通式(I)中,



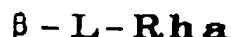
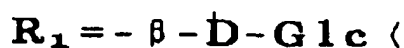
$R_2 = CH_3$, $R_3 = H$, C_{22} 和 C_{25} 均为R构型的化合物 - p
rotogracillin

所用活性物质为通式(I)中,



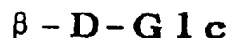
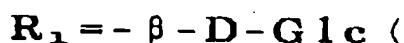
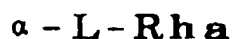
$R_2 = CH_3$, $R_3 = CH_3$, C_{22} 为R构型或者S构型, C_{25}
为S构型的化合物 - methylprotoneodioscin

所用活性物质为通式(I)中,



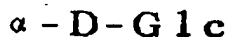
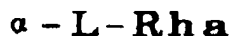
$R_2 = CH_3$, $R_3 = CH_3$, C_{22} 为R构型或者S构型, C_{25} 为R构型的化合物-methylprotoneodioscin

所用活性物质为通式(I)中,



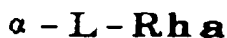
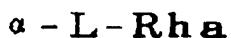
$R_2 = CH_3$, $R_3 = CH_3$, C_{22} 为R构型或者S构型, C_{25} 为R构型的化合物-methylprotoneogracillin

所用活性物质为通式(I)中,



$R_2 = CH_3$, $R_3 = CH_3$, C_{22} 为R构型或者S构型, C_{25} 为R构型的化合物-methylprotogracillin

所用活性物质为通式(I)中,



$R_2 = CH_2OH$, $R_3 = H$, C_{22} 为R构型, C_{25} 为S构型的化合物-hypoglaucin F.

6、根据权利要求1所述的一种治疗癌症的甾体皂甙类化合物及其制备方法, 其特征在于: 所述剂型为片剂、散剂、颗粒剂、胶囊剂、丸剂、

栓剂、肠溶剂、注射剂、糖浆剂、乳剂、混悬剂、酏剂、膏剂、喷雾剂。

7、根据权利要求1所述的一种治疗癌症的甾体皂甙类化合物及其制备方法，其特征在于：所述赋型剂为淀粉、乳糖、蔗糖、甘露糖、羟甲基纤维素。

一种治疗癌症的甾体皂甙类化合物及其制备方法

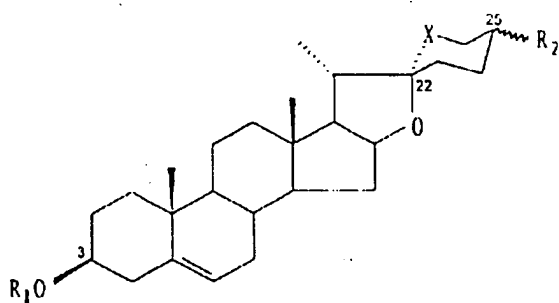
本发明涉及医药技术领域，确切地说它是一种治疗癌症的甾体皂甙类化合物。

癌症是一种不易治愈的恶性肿瘤，虽然目前有很多治疗癌症的药物和方法，如化学疗法，放射疗法和中医药疗法，但是化学疗法和放射疗法的副作用较大，长期使用后造成病人抵抗力下降，会发生厌食和脱发现象，病人难以忍受化疗和放疗过程中产生的副作用，病人的生存质量并没有得到较大的提高，中医疗法虽然副作用较低，但疗效不够显著，对中晚期癌症患者的疗效不够明显。因而开发疗效显著适合各期癌症病人的中药是治疗癌症的一个发展方向。真菌的孢子或者菌丝的形态变形可以作为筛选活性化合物的指标，这些形态上的异常包括卷曲、肿胀、高度分支、念珠形成以及生长受到抑制 (Richmond, D.V. Adv. Appl. Microbiol. 1975, 19, 289, Brain, P.W. Ann. Bot. 1949, 13, 59, Betina, V. and Micekova, D. z. Allg. Mikrobiol. 1973, 13, 287; Isono, K, Kobinata, K and Suzuki, S. Agric. Biol. Chem 1968, 32, 792)。小林久芳等人以植物病原真菌稻瘟霉 *pyricularia oryzae* 菌丝形态变形为筛选指标，建立了一种用于筛选真菌二次代谢产物中抗真菌、抗癌化合物的定量活性筛选模型 (Kobayashi, H., Namikoshi, M, Yoshimoto, T. and Yokochi T. J. Antibiotics 1996, 49, 873)，并且获得细胞毒活性很强的 rhizoxin (Tsuruo, T., Oh-hara, T., Iida, H., Tsukagoshi, S., Sato, Z., M

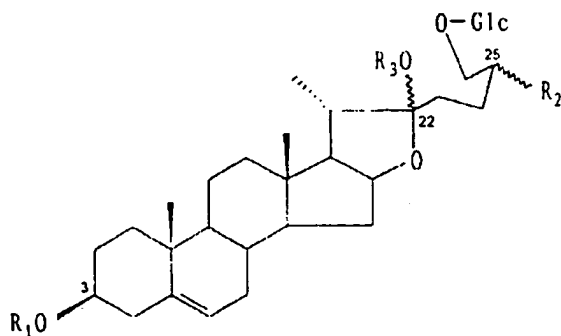
atsuda, I., Iwasaki, S., Okuda, S., Shimizu, F., Sasagawa, K., Fukami, M., Fukuda, K and Arakawa, M Cancer Res. 1986, 46, 381) 和抗真菌活性很强的 fusarielin A (Kobayashi, H., Sunaga, R., Furihata, K., Morisaki, N and Iwasaki, S. J. Antibiotics 1995, 48, 42)。作者首次将该活性模型用于中草药的活性筛选中。根据上数模型可以研究出一种以植物和中草药为原料提取一种治疗癌症的甾体皂甙化合物。

本发明的目的是提供一种以植物和中草药为原料提取出一种能够治疗癌症的甾体皂甙类化合物，它不但对各种癌症有较好的疗效，而且长期使用还无副作用。

本发明的目的是通过如下方案实现的，它是以植物和中药材为原料提取的化合物，其特征在于：将植物或中药材经乙醇提取，再用正丁醇萃取，再利用包括吸附树脂柱层析、真空液相柱层析、硅胶柱层析、Sephadex 柱层析、中低压柱层析以及制备型高压液相 (HPLC) 柱层析等分离手段，从天然植物或者中药中获得的具有通式 (I)、(II) 甾体皂甙类化合物，或者通过合成以及半合成手段获得具有通式 (I)、(II) 的甾体皂甙类化合物，通式 (I)、(II) 化合物的结构如下：



通式 (I)



通式 (II)

通式(I)中:

R_1 = 由单糖、双糖、三糖、四糖、五糖、六糖所组成的各种形式的直链糖链或支链糖链, 其糖链组成糖的类型包括 β -D-葡萄糖 (β -D-glucose)、 α -D-葡萄糖 (α -D-glucose)、 α -L-鼠李糖 (α -L-rhamnose)、 β -D-半乳糖 (β -D-glucose)、 α -D-半乳糖 (α -D-glucose)、 β -D-甘露糖 (β -D-mannose)、 α -D-甘露糖 (α -D-mannose)、 α -D-阿拉伯糖 (α -D-arabinose)、 β -D-阿拉伯糖 (β -D-arabinose)、 α -D-木糖 (α -D-xylose)、 β -D-木糖 (β -D-xylose)、 α -D-核糖 (α -D-ribose)、 β -D-核糖 (β -D-ribose)、 α -D-来苏糖 (α -D-lyxose)、 β -D-来苏糖 (β -D-lyxose)、 α -L-夫糖 (α -L-fucose)。

$R_2 = CH_3, CH_2OH, =CH_2$

$X = O, N$

C_{25} 为R构型或者S构型

通式(I)中:

R_1 = 由单糖、双糖、三糖、四糖、五糖、六糖所组成的各种形式的直链糖链或支链糖链, 其糖链组成糖的类型包括 β -D-葡萄糖 (β -D-glucose)、 α -D-葡萄糖 (α -D-glucose)、 α -L-鼠李糖 (α -L-rhamnose)、 β -D-半乳糖 (β -D-galactose)、 α -D-半乳糖 (α -D-galactose)、 β -D-甘露糖 (β -D-mannose)、 α -D-甘露糖 (α -D-mannose)、 α -D-阿拉伯糖 (α -D-aradinose)、 β -D-阿拉伯糖 (β -D-aradinose)、 α -D-

-木糖 (α -D-xylose)、 β -D-木糖 (β -D-xylose)、 α -D-核糖 (α -D-ribose)、 β -D-核糖 (β -D-ribose)、 α -D-来苏糖 (α -D-lyxose)、 β -D-来苏糖 (β -D-lyxose)、 α -L-夫糖 (α -L-fucose)。

$R_2 = CH_3, CH_2OH, =CH_2$

$R_3 = H, CH_3$

C_{22} 为R构型或者S构型

C_{26} 为R构型或者S构型

采用上述化合物的单体或选择其中任意两个或多个单体以任意比例进行组合的复方形式，使之与适宜的赋形剂相结合按常规方法制成的口服给药的内用剂型及非口服给药的注射剂和外用剂型。

所用活性物质为通式 (I) 中，

$R_1 = -\beta-D-Glc-\alpha-L-Rha$

$R_2 = CH_3, X=N, C_{26}$ 为R构型的化合物 - β_2 -solamargine。

所用活性物质为通式 (I) 中，

$\alpha-L-Rha$

$R_1 = \beta-D-Glc ($

$\alpha-L-Rha$

$R_2 = CH_3, X=N, C_{26}$ 为R构型的化合物 - solamargine。

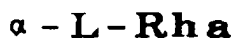
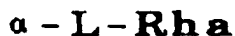
所用活性物质为通式 (I) 中，

$R_1 = -\beta-D-Glc-\alpha-L-Rha$

$R_2 = CH_3, X=O, C_{26}$ 为R构型的化合物 - prosapo

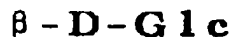
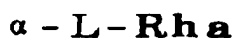
genin A of dioscin.

所用活性物质为通式 (I) 中,



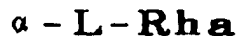
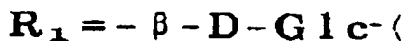
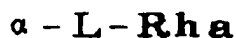
$R_2 = CH_3$, $X = O$, C_{25} 为 R 构型的化合物 - dioscin.

所用活性物质为通式 (I) 中,



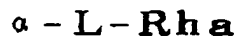
$R_2 = CH_3$, $X = O$, C_{25} 为 R 构型的化合物 - gracillin.

所用活性物质为通式 (I) 中,



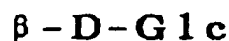
$R_2 = CH_3$, $R_3 = H$, C_{22} 为 R 构型, C_{25} 为 S 构型的化合物 - protoneodioscin.

所用活性物质为通式 (I) 中,



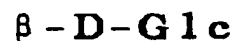
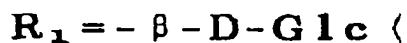
$R_2 = CH_3$, $R_3 = H$, C_{22} 和 C_{25} 均为 R 构型的化合物 - protoneodioscin.

所用活性物质为通式 (I) 中,



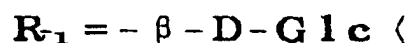
$R_2 = CH_3$, $R_3 = H$, C_{22} 为 R 构型, C_{25} 为 S 构型的化合物 - protoneogracyllin.

所用活性物质为通式 (I) 中,



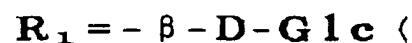
$R_2 = CH_3$, $R_3 = H$, C_{22} 和 C_{25} 均为 R 构型的化合物 - protogracyllin.

所用活性物质为通式 (I) 中,



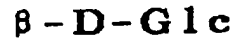
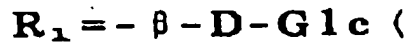
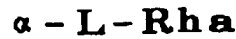
$R_2 = CH_3$, $R_3 = CH_3$, C_{22} 为 R 构型或者 S 构型, C_{25} 为 S 构型的化合物 - methylprotoneodioscin.

所用活性物质为通式 (I) 中,



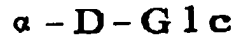
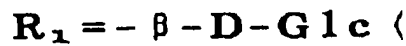
$R_2 = CH_3$, $R_3 = CH_3$, C_{22} 为 R 构型或者 S 构型, C_{25} 为 R 构型的化合物 - methylprotoneodioscin.

所用活性物质为通式 (I) 中,



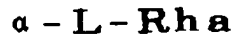
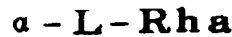
$R_2=CH_3$, $R_3=CH_3$, C_{22} 为R构型或者S构型, C_{25} 为R构型的化合物-methylprotoneogracylin.

所用活性物质为通式(I)中,



$R_2=CH_3$, $R_3=CH_3$, C_{22} 为R构型或者S构型, C_{25} 为R构型的化合物-methylprotogracillin.

所用活性物质为通式(I)中,



$R_2=CH_2OH$, $R_3=H$, C_{22} 为R构型, C_{25} 为S构型的化合物-hypoglaucin F.

所述剂型为片剂、散剂、颗粒剂、胶囊剂、丸剂、栓剂、肠溶剂、注射剂、糖浆剂、乳剂、混悬剂、酏剂、膏剂、喷雾剂。

所述赋型剂为淀粉、乳糖、蔗糖、甘露糖、羟甲基纤维素。

本发明的优点是:对各期癌症病人均有较好的疗效,同时长期使用无毒副作用,还可与各种赋型剂结合,可以制成口服给药的剂型也可以制成非口服给药的注射剂型和外用剂型,因而使用方便,可以根据病人的不同情况因病施治,以取得较好的疗效。

下面结合附图和实施例对本发明进行进一步详细的描述。

图1为甾体皂甙化合物gracilllin体外抑瘤量效关系图

实施例:

1. 甾体皂甙化合物solamargine的提取分离

茄科植物Solanum lyratum的干燥全草1kg用60%乙醇室温浸提, 浓缩浸提液得乙醇提取物。将乙醇提取物混悬于水中, 用正丁醇萃取, 得到相应的正丁醇萃取物10.7g。经硅胶柱层析, 梯度洗脱得到5个流分RB-1~RB-5。其中RB-3经硅胶柱层析和制备薄层层析得化合物solamargine (57.7mg)。

2. 甾体皂甙化合物prosapogenin A of dioscin, dioscin, gracilllin和protograccilllin的提取分离

姜科植物Costus speciosus的干燥根茎1kg用60%乙醇室温浸提, 浓缩浸提液得乙醇提取物得到95g乙醇提取物。将乙醇提取物混悬于水中, 用正丁醇萃取, 得到相应的正丁醇萃取物8.5g。经硅胶柱层析梯度洗脱得4个流分DB-1~DB-4。DB-2经硅胶柱层析得到单体化合物prosapogenin A of dioscin (20.7mg), dioscin (22.8mg), gracilllin (32.9mg) 和protograccilllin (245mg)。

3. 实施例1、2中甾体皂甙化合物solamargine, prosapogenin A of dioscin, dioscin, gracilllin和protograccilllin的结构鉴定:

利用光谱技术, 包括紫外、红外、质谱及核磁共振谱分析 (1D-NMR和2D-NMR), 鉴定了实施例1、2中甾体皂甙化合物solamargine, prosapogenin A of dioscin, dioscin, gracilllin和protograccilllin

in的结构。运用2D-NMR技术,尤其是通过HMBC谱解决了甾体皂甙元上取代基的位置和糖的连接顺序及连接位置,并对全部氢信号和碳信号进行正确的归属(见表1~表5)。

4. 实施例1中甾体皂甙化合物soamargine的体外抑瘤实验

实施例1中甾体皂甙化合物soamargine对于人体3个癌系共计6个瘤株HT-29(结肠癌colon)、HCT-15(结肠癌colon)、LNC_{ap}(前列腺癌prostate)、PC-3(前列腺癌prostate)、T47D(乳腺癌breast)和MDA-MB-231(乳腺癌breast)的体外抑瘤活性实验(结果见表6),活性测试采用MTT法。其中结肠癌的HT-29和HCT-15瘤株以及前列腺癌的LNC_{ap}和PC-3瘤株均用含有10%小牛血清(FCS)、100IU/ml青霉素(penicillin)及100μg/ml(streptomycin)的RPMI1640培养基进行培养。乳腺癌的T47D和MDA-MB-231瘤株则用含有10%小牛血清(FCS)、100IU/ml青霉素(penicillin)、100μg/ml(streptomycin)及5μg/ml胰岛素的RPMI 1640培养基进行培养。细胞经24小时培养后,在96孔板的每一个孔中加入0.2ml含1000个瘤细胞的细胞悬液,在37℃下培养5天。而后,每一个中加入50μl的MTT溶液(2mg/ml),继续培养4小时。去除培养基,每孔中加二甲基亚砜(DMSO)200μl溶解细胞10分钟。而后,96孔板在540nm处用microtiter plate reader(Dynatech MR5000)进行读数。以不加检品(solamargine)的细胞作为对照(100%存活率),计算出样品solamargine

的IC₅₀值。

5. 实施例2中甾体皂甙化合物gracillin的体外抑瘤实验

实施例2中甾体皂甙化合物gracillin对于人体9个癌系共计55个瘤株的体外抑瘤活性实验(结果见表7、图1)。这9个癌系包括白血病(Leukemia)、肺癌(Non-Small Cell Lung Cancer)、中枢神经瘤(CNS Cancer)、结肠癌(Colon Cancer)、黑色素瘤(Melanoma)、卵巢癌(Ovarian Cancer)、肾癌(Renal Cancer)、前列腺癌(Prostate Cancer)和乳腺癌(Breast Cancer)。

6. 甾体皂甙化合物prosapogenin A of dioscin 25g与微晶纤维素90g及硬脂酸镁10g混合, 混合物用单冲压片机打成Φ6mm, 重量300mg的片剂。本片剂中每片含皂甙prosapogenin A of dioscin 60mg。结合病症, 每次2~3片, 每日服用2~3次。

7. 甾体皂甙化合物gracillin 10g与玉米淀粉90g混合, 加水制成软材, 过12目筛造粒, 干燥, 得颗粒剂。本颗粒剂中, 每500mg中含皂甙gracillin 50mg。结合症状, 每次1.0~2.0g, 每日服用2~3次。

8. 甾体皂甙化合物protoneodioscin 40g与乳糖110g、硬脂酸镁10g混合, 以每500mg填充胶囊。本胶囊剂中, 每个胶囊含皂甙protoneodioscin 125mg。结合症状, 每次1~2个, 每日服用2~3次。

9. 甾体皂甙化合物protodioscin 10g, 加水300ml溶解, 加橙皮甙4ml, 加单糖浆至1000ml得糖浆剂。本糖浆

剂1ml中含皂甙protodioscin10mg。结合症状，每次10~15ml，每日服用2~3次。

10. 甾体皂甙化合物protoneogracillin和protogracillin各50g与微晶纤维素90g及硬脂酸镁10g混合，混合物用单冲压片机打成Φ6mm的片剂，并用CAP薄膜包衣，制成重量300mg的肠溶制剂。本肠溶片中每片含皂甙protoneogracillin和protogracillin各75mg。结合症状，每次1~2片，每日服用2~3次。

11. 甾体皂甙化合物methyl protoneogracillin 20g和methyl protodioscin 10g与乳糖85g、硬脂酸镁5g混合，以每600mg填充肠溶胶囊。本肠溶胶囊剂中，每个胶囊含皂甙methyl protoneogracillin100mg和methyl protodioscin 50mg。结合症状，每次1~2个，每日服用2~3次。

12. 甾体皂甙化合物methyl protoneogracillin 20g以普通注射剂制备法，用加热到60℃的注射用蒸馏水1000ml溶解，用NaCl调解等张，封入安瓶。本注射剂10ml中含皂甙methyl protoneogracillin200mg。结合症状，每次肌肉注射10ml，每日注射2次。

表1. 实施例1、3中甾体皂甙化合物solamargine, prosapogenin A of dioscin, dioscin, gracillin和protogracillin的理化常数和光谱数据
Solamargine: 白色无定形粉末; Lieberman-Burchard和Dragendoff反应均呈阳性; m.p. > 300℃; $[\alpha]^{24}_D - 102^\circ$ (pyridine; c 0.10); IR (KB

r) : $\nu_{\max}=3400, 2950, 1380, 1040, 912$
 $(890, 805 \text{ cm}^{-1})$, FAB-MS (pos.) : $m/z=890$ (M+Na) $^{+}$, 868 (M+H) $^{+}$, 722 (M+H-Rha) $^{+}$,
 558 (M+H-Rha \times 2-H $_2$ O) $^{+}$, 414 (M+H-Rha \times
 2-Glc) $^{+}$, 396 (M+H-Rha \times 2-Glc-H $_2$ O) $^{+}$,
 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, C $_6$ D $_6$ N) 和 $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, C $_6$ D $_6$ N) : 表2和表3

Prosapogenin A of dioscin: 白色无定形粉末; Lieberman-Burchard反应阳性; m.p. 238-240 $^{\circ}\text{C}$ (dec.) ; $[\alpha]^{25}_D$: -90.8 $^{\circ}$ (pyridine; c 0.01) ; IR (KBr) : $\nu_{\max}=3400, 2930, 1630, 1451, 1040, 980, 912$ (897 cm^{-1} , FAB-MS (pos.) : $m/z=723$ (M+H) $^{+}$, 577 (M+H-Rha) $^{+}$, 415 (M+H-Rha-Glc) $^{+}$; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, C $_6$ D $_6$ N) 和 $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, C $_6$ D $_6$ N) : 表2和表3

Dioscin: 白色针晶; Lieberman-Burchard反应阳性; m.p. 281-282 $^{\circ}\text{C}$ (dec.) ; $[\alpha]^{25}_D$: -104.0 $^{\circ}$ (pyridine; c 0.01) ; IR (KBr) : $\nu_{\max}=3422, 2937, 1637, 1454, 1381, 1044, 912$ (899 cm^{-1} ; FAB-MS (pos.) : $m/z=869$ (M+H) $^{+}$, 723 (M+H-Rha) $^{+}$, 577 (M+H-Rha \times 2) $^{+}$, 415 (M+H-R \times 2-Glc) $^{+}$, $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, C $_6$ D $_6$ N) 和 $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, C $_6$ D $_6$ N) : 表2和表3

Gracillin: 白色无定形粉末; Lieberman-Burchard 反应阳性; m.p. 284-285°C (dec.). $[\alpha]^{25}_D$: -80.3° (pyridine; c 0.01); IR (KBr); V_{max} = 3420, 2940, 1689, 1454, 1381, 1046, 914 ($900, 815\text{ cm}^{-1}$); FAB-MS (pos.): m/z = 885 (M+H)⁺, 723 (M+H-Glc)⁺, 577 (M+H-Rha-Glc)⁺, 415 (M+H-Glc×2Rha)⁺, ¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆N) 和 ¹³C-NMR (125 MHz, C₆D₆N): 表4和表5

Protogracillin: 白色无定形粉末; Lieberman-Burchard 和 Enrich 反应均呈阳性; m.p. 254-256°C (dec.); $[\alpha]^{25}_D$: -72.9° (pyridine; c 0.01); FAB-MS (pos.): m/z = 1047 (M+H-H₂O)⁺, 885 (M+H-H₂O-Glc)⁺, 729 (M+H-H₂O-Glc-Rha)⁺, 577 (M+H-H₂O-Glc×2-Rha)⁺, 415 (M+H-H₂O-Glc×-Rha)⁺; ¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆N) 和 ¹³C-NMR (125 MHz, C₆D₆N): 表4和表5

表 2. 实施例 1、2 中甾体皂甙化合物 solamargine, prosapogenin A of dioscin 和 dioscin 的 ^1H 、 ^{13}C -NMR 的化学位移值 (甙元部分, δ ppm, 溶剂为 $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

Position	prosapogenin A of dioscin		dioscin		solamargine	
	H	C	H	C	H	C
1	0.97, 1.94 (o)	37.6	0.98, 1.72 (o)	37.5	0.95, 1.71 (o)	37.5
2	1.89, 2.14 (o)	30.2	1.82, 2.07 (o)	30.2	1.83, 2.05 (o)	30.1
3	3.94 (m)	78.0	3.86 (m)	78.2	3.85 (m)	78.0
4	2.73, 2.81 (m)	39.1	2.69, 2.78 (m)	39.0	2.69, 2.78 (m)	38.9
5		141.0		140.9		140.8
6	5.31 (br. d)	121.8	5.32 (br. d)	121.8	5.30 (br. d)	121.7
7	1.46, 1.87 (o)	32.4	1.49, 1.87 (o)	32.2	1.45, 1.85 (o)	32.1
8	1.55 (o)	31.8	1.54 (o)	31.7	1.47 (o)	31.6
9	0.90 (o)	50.4	0.89 (o)	50.4	0.85 (o)	50.1
10		37.2		37.2		37.1
11	1.43 (o)	21.1	1.42 (o)	21.1	1.40 (o)	21.0
12	1.09, 1.69 (o)	39.9	1.09, 1.68 (o)	39.9	1.03, 1.60 (o)	39.4
13		40.5		40.5		40.9
14	1.08 (o)	56.7	1.07 (o)	56.7	1.02 (o)	56.3
15	1.44, 2.03 (o)	32.3	1.47, 2.02 (o)	32.3	1.45, 2.01 (o)	32.5
16	4.54 (o)	81.1	4.53 (o)	81.1	4.90 (o)	82.1
17	1.80 (o)	63.0	1.79 (o)	62.9	2.01 (o)	62.6
18	0.83 (s)	16.3	0.82 (s)	16.3	0.80 (s)	16.2
19	1.05 (s)	19.4	1.04 (s)	19.4	1.03 (s)	19.4
20	1.94 (o)	42.0	1.94 (o)	42.0	2.18 (o)	42.0
21	1.13 (d, 6.9)	15.0	1.12 (d, 7.0)	15.0	1.26 (d, 7.0)	15.1
22		109.3		109.3		98.7
23	1.69 (o)	31.9	1.43 (o)	31.9	1.35, 1.80 (o)	33.4
24	1.57 (o)	29.3	1.56 (o)	29.3	1.15, 1.60 (o)	29.2
25	1.58 (o)	30.6	1.57 (o)	30.6	1.89 (o)	29.2
26	3.49, 3.57 (m)	66.9	3.48, 3.57 (m)	66.9	2.93, 3.21	46.7
27	0.69 (d, 6.5)	17.3	0.69 (d, 6.0)	17.3	0.74 (d, 6.8)	18.9

表 3. 实施例 1、2 中甾体皂甙化合物 solamargine, prosapogenin A of dioscin 和 dioscin 的 ^1H 、 ^{13}C -NMR 的化学位移值 (糖链部分, δ ppm, 溶剂为 $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

Position	prosapogenin A of dioscin		dioscin		solamargine	
	H	C	H	C	H	C
Glc (inner)						
1'	5.02 (d, 7.2)	100.5	4.92 (d, 7.2)	100.3	4.92 (o)	100.2
2'	4.26 (o)	77.9	4.18 (o)	77.9	4.18 (o)	77.7
3'	4.26 (o)	79.7	4.18 (o)	77.9	4.18 (o)	77.9
4'	4.14 (t, 9.0)	71.9	4.34 (o)	78.8	4.36 (o)	78.5
5'	3.87 (m)	78.3	3.62 (m)	76.9	3.62 (m)	76.9
6'	4.34, 4.49 (o)	62.8	4.06, 4.20 (o)	61.4	4.18, 4.07 (o)	61.2
Rha (1→2)						
1''	6.35 (d, 1.0)	102.1	6.32 (d, 1.0)	102.0	6.37 (d, 1.0)	102.0
2''	4.77 (dd, 1.0, 3.5)	72.6	4.78 (dd, 1.0, 3.5)	72.5	4.81 (dd, 1.0, 3.5)	72.5
3''	4.60 (dd, 3.5, 9.0)	72.9	4.58 (dd, 3.5, 9.0)	72.8	4.60 (dd, 3.5, 9.5)	72.7
4''	4.34 (o)	74.2	4.32 (o)	74.1	4.34 (o)	73.9
5''	4.97 (m)	69.5	4.91 (o)	69.5	4.94 (o)	69.5
6''	1.76 (d, 6.5)	18.7	1.74 (d, 6.5)	18.6	1.74 (d, 6.5)	18.6
Rha (1→4)						
1'''			5.79 (d, 1.0)	102.9	5.83 (d, 1.0)	102.8
2'''			4.64 (dd, 1.0, 3.5)	72.5	4.66 (dd, 1.0, 3.5)	72.5
3'''			4.49 (dd, 3.5, 9.0)	72.7	4.52 (dd, 3.5, 9.5)	72.8
4'''			4.28 (o)	73.9	4.31 (o)	74.1
5'''			4.84 (o)	70.4	4.92 (o)	70.4
6'''			1.59 (d, 6.5)	18.5	1.60 (d, 6.5)	18.5

表 4. 实施例 2 中甾体皂甙化合物 gracillin 和 protogracillin 的 ^1H 、 ^{13}C -NMR 的化学位移值 (甙元部分, δ ppm, 溶剂为 $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

No.	gracillin		protogracillin	
	H	C	H	C
1	0.92, 1.72 (o)	37.5	0.96, 1.74 (o)	37.5
2	1.94, 2.10 (o)	30.1	1.86, 2.10 (o)	30.1
3	3.95 (m)	77.9	3.94 (o)	77.9
4	2.74, 2.80 (m)	38.7	2.72, 2.79 (m)	38.7
5		140.8		140.8
6	5.32 (br. d)	121.9	5.32 (br. d)	121.9
7	1.40, 1.87 (o)	32.2	1.47, 1.92 (o)	32.4
8	1.54 (o)	31.7	1.59 (o)	31.7
9	0.80 (o)	50.3	0.90 (o)	50.3
10		37.1		37.2
11	1.41 (o)	21.1	1.45 (o)	21.1
12	1.08, 1.66 (o)	39.9	1.12, 1.73 (o)	40.0
13		40.5		40.7
14	1.06 (o)	56.6	1.08 (o)	56.6
15	1.43, 2.03 (o)	32.2	1.46, 2.04 (o)	32.5
16	4.53 (o)	81.1	4.92 (o)	81.1
17	1.79 (o)	62.9	1.94 (o)	63.9
18	0.82 (s)	16.3	0.89 (s)	16.5
19	1.05 (s)	19.4	1.05 (s)	19.4
20	1.94 (o)	42.0	2.22 (m)	40.8
21	1.13 (d, 6.9)	15.0	1.32 (d, 6.5)	16.5
22		109.3		110.7
23	1.63 (o)	31.7	1.72, 2.02 (o)	37.0
24	1.56 (o)	29.3	1.68, 2.03 (o)	28.4
25	1.57 (o)	30.6	1.92 (o)	34.3
26	3.49, 3.57 (m)	66.9	3.62, 3.94 (o)	75.2
27	0.69 (d, 6.5)	17.3	1.02 (d, 6.7)	17.5

表 5. 实施例 2 中甾体皂甙化合物 gracillin 和 protogracillin 的 ^1H 、 ^{13}C -NMR 的化学位移值 (糖链部分, δ ppm, 溶剂为 $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

No.	gracillin		protogracillin	
	H	C	H	C
C-3 糖链				
Glc (inner)				
1'	4.94 (d, 7.3)	100.0	4.93 (o)	100.1
2'	4.20 (o)	77.0	4.18 (o)	77.0
3'	4.18 (o)	89.6	4.16 (o)	89.5
4'	4.06 (o)	69.6	4.03 (o)	69.6
5'	3.82 (m)	77.7	3.80 (m)	77.9
6'	4.24, 4.43 (o)	62.4	4.24, 4.42 (o)	62.4
Rha (1→2)				
1''	6.39 (d, 1.0)	102.2	6.35 (d, 0.9)	102.2
2''	4.89 (dd, 1.0, 3.5)	72.5	4.85 (o)	72.5
3''	4.57 (o)	72.8	4.55 (o)	72.8
4''	4.32 (o)	74.1	4.28 (o)	74.1
5''	4.93 (o)	69.6	4.90 (o)	69.6
6''	1.75 (d, 6.5)	18.7	1.74 (d, 6.0)	18.7
Glc (1→3)				
1'''	5.11 (d, 7.3)	104.6	5.09 (d, 7.2)	104.5
2'''	4.01 (o)	75.0	4.00 (o)	75.0
3'''	4.16 (o)	78.5	4.18 (o)	78.5
4'''	4.12 (o)	71.5	4.10 (t, 9.0, 9.0)	71.7
5'''	4.02 (o)	78.7	4.00 (o)	77.9
6'''	4.28, 4.55 (o)	62.4	4.28, 4.52 (o)	62.4
C-26 糖链				
Glc				
1''''			4.79 (d, 7.6)	104.9
2''''			4.00 (o)	75.2
3''''			4.18 (o)	78.5
4''''			4.19 (o)	71.5
5''''			3.93 (o)	78.6
6''''			4.36, 4.51 (o)	62.8

表 6. 实施例 1 中甾体皂甙化合物 solamargine 体外抑瘤实验^a

化合物	IC ₅₀ (μM)					
	HT-29	HCT-15	LNCap	PC-3	T47D	MDA-MB-231
solamargine	2.3±0.7	2.1±0.6	1.6±0.4	2.1±0.7	1.9±0.2	1.5±0.1
Vp16 ^b	0.4	1.0	0.3	12.6	<0.1	0.4

^a 体外抑瘤实验包括人体 3 个癌系共计 6 个瘤株 HT-29 (结肠癌 colon)、HCT-15 (结肠癌 colon)、LNCap (前列腺癌 prostate)、PC-3 (前列腺癌 prostate)、T47D (乳腺癌 breast)和 MDA-MB-231 (乳腺癌 breast).

^b 阳性对照品

表 7. 实施例 2 中甾体皂甙化合物 gracillin 体外抑瘤实验^a

Cell Lines	GI50	TGI	LC50	Cell Lines	GI50	TGI	LC50
Leukemia				Melanoma			
CCRF-CEM	> 100	> 100	> 100	LOX IMVI	2.38	5.90	> 100
HL-60 (TB)	3.35		> 100	MALME-3M	1.57	3.28	6.83
K-562	> 100	> 100	> 100	M14	3.14	> 100	> 100
MOLT-4	> 100	> 100	> 100	SK-MEL-2	1.93	3.62	6.79
RPMT-8226	3.82		> 100	SK-MEL-28	1.95	4.08	8.53
SR	> 100	> 100	> 100	SK-MEL-5	1.91	3.85	7.79
Non-Small Cell Lung Cancer				UACC-257	2.12	4.46	9.36
EKVX	2.38	4.81	9.74	UACC-62	3.31	> 100	> 100
HOP-62	2.66	5.30	> 100	Ovarian Cancer			
HOP-92	1.81	4.27	> 100	IGROV1	1.76	3.30	6.20
NCI-H226	2.00	4.25		OVCAR-3	2.00	3.96	7.82
NCI-H23	1.96	3.59	6.55	OVCAR-4	1.85	3.89	8.19
NCI-H322M	1.91	3.71	7.22	OVCAR-5	2.09	4.25	8.65
NCI-H460	3.15	> 100	> 100	OVCAR-8	3.19	> 100	> 100
NCI-H522	1.86	3.56	6.82	Renal Cancer			
Colon Cancer				786-0	2.00	4.34	
COLO 205	1.95	4.05	8.43	ACHN	2.00	3.64	6.62
HCC-2998	1.95	4.08	8.52	CAKI-1	3.50	5.07	7.34
HCT-116	3.58	> 100	> 100	RXF 393	2.17	4.43	9.02
HCT-15	2.03	4.83	> 100	SN12C	1.73	3.30	6.28
HT29	2.76		> 100	TK-10	2.22	5.15	> 100
KM12	2.49	5.72	> 100	UO-31	2.07	3.83	7.07
SW-620	0.205	4.39	> 100	Prostate Cancer			
CNS Cancer				PC-3	2.16	4.25	8.35
SF-268	2.06	4.23	8.66	DU-145	2.31	5.13	> 100
SF-295	2.41	5.91	> 100	Breast Cancer			
SF-539	2.56	7.65	> 100	MCF-7	2.64	6.23	> 100
SNB-19	2.05	3.76	6.89	NCI/ADR-RES	2.46	6.18	> 100
SNB-75	1.96	3.84	7.52	MDA-MB-435	1.84	4.37	> 100
U251	2.33	> 100	> 100	MDA-N	1.76	3.30	6.19
				BT-549	1.74	3.68	7.74
				T-47D	2.73	6.42	> 100

^a 体外抑瘤实验包括人体 9 个癌系共计 55 个瘤株

说明书附图

